

PATENT

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

In re the application of:

Kikuji YAMASHITA et al.

Serial Number: Not Assigned

Examiner: Not Assigned

Filed: July 2, 2001

Art Unit: Not Assigned

For: ORGANISM-COMPATIBLE MATERIALS WITH COMBINED EXTRA-CELLULAR
MATRICES, EXTRACELLULAR-MATRIX PREPARATIONS, AND PRODUCTION
METHOD

11011 U.S. PTO
09/895400
07/02/01

CLAIM TO PRIORITY UNDER 35 U.S.C. § 119

Assistant Commissioner
for Patents
Washington, D.C. 20231

July 2, 2001

Sir:

The benefit of the filing date of the following prior foreign application is hereby requested for the above-identified application, and the priority provided in 35 U.S.C. § 119 is hereby claimed:

Japanese Patent Application No. 2000-200610, filed July 3, 2000

In support of this claim, the requisite certified copy of said original foreign application is filed herewith.

It is requested that the file of this application be marked to indicate that the applicant has complied with the requirements of 35 U.S.C. § 119 and that the Patent and Trademark Office kindly acknowledge receipt of this document.

In the event any fees are required, please charge our Deposit Account No. 111833.

Respectfully submitted,

KUBOVCIK & KUBOVCIK



Keiko Tanaka Kubovcik
Reg. No. 40,428

Atty. Case No. YMA-002
The Farragut Building
Suite 710
900 17th Street, N.W.
Washington, D.C. 20006
Tel: (202) 887-9023
Fax: (202) 887-9093

KTK/emd

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE



別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office

出 願 年 月 日

Date of Application:

2000年 7月 3日

出 願 番 号

Application Number:

特願2000-200610

出 願 人

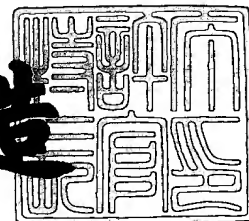
Applicant(s):

山下 菊治
石川島播磨重工業株式会社

2001年 5月31日

特 許 庁 長 官
Commissioner,
Japan Patent Office

及 川 耕 造



出証番号 出証特2001-3044087

【書類名】 特許願
 【整理番号】 SA0-0552
 【あて先】 特許庁長官殿
 【国際特許分類】 A61L 31/00
 A61C 8/00

【発明者】

【住所又は居所】 徳島県名西郡石井町藍畑字竜王 5 1 - 6 9

【氏名】 山下 菊治

【発明者】

【住所又は居所】 東京都江東区豊洲三丁目 1 番 1 5 号 石川島播磨重工業
 株式会社 東京エンジニアリングセンター内

【氏名】 鶴飼 英實

【発明者】

【住所又は居所】 東京都田無市向台町三丁目 5 番 1 号 石川島播磨重工業
 株式会社 田無工場内

【氏名】 村上 晃一

【特許出願人】

【住所又は居所】 徳島県名西郡石井町藍畑字竜王 5 1 - 6 9

【氏名又は名称】 山下 菊治

【特許出願人】

【識別番号】 000000099

【氏名又は名称】 石川島播磨重工業株式会社

【代表者】 武井 俊文

【代理人】

【識別番号】 100104329

【弁理士】

【氏名又は名称】 原田 卓治

【選任した代理人】

【識別番号】 100070747

【弁理士】

【氏名又は名称】 坂本 徹

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 067678

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 細胞外マトリックス結合型生体融和材料およびその製造方法、細胞外マトリックス製剤およびその製造方法

【特許請求の範囲】

【請求項1】 生体用材料上に石灰化層を介し、使用される生体部位の細胞による細胞外マトリックスを形成してなることを特徴とする細胞外マトリックス結合型生体融和材料。

【請求項2】 前記生体用材料がチタンまたはチタン合金あるいはハイドロキシアパタイトなどのリン酸カルシウム系化合物、あるいはこれらを表面に有するガラス、ポリマー、セラミックスのいずれかであることを特徴とする請求項1記載の細胞外マトリックス結合型生体融和材料。

【請求項3】 前記使用される生体部位の前記細胞が、骨芽細胞、軟骨芽細胞、腱細胞、血管内皮細胞、上皮細胞、線維芽細胞、グリア細胞のいずれかであり、このいずれかの細胞による細胞外マトリックスであることを特徴とする請求項1または2記載の細胞外マトリックス結合型生体融和材料。

【請求項4】 前記細胞外マトリックス上に、使用される生体部位の細胞を備えてなることを特徴とする請求項1～3のいずれかに記載の細胞外マトリックス結合型生体融和材料。

【請求項5】 培養液中のチタンまたはチタン合金上に、使用される生体部位の細胞を培養し、この細胞と前記チタンまたはチタン合金上に形成される石灰化層との間に細胞外マトリックスを形成させるようにしたことを特徴とする細胞外マトリックス結合型生体融和材料の製造方法。

【請求項6】 培養液中のチタンまたはチタン合金上に、使用される生体部位の細胞を培養し、この細胞と前記チタンまたはチタン合金上に形成される石灰化層との間に細胞外マトリックスを形成させたのち、前記生体部位の細胞を除去するようにしたことを特徴とする細胞外マトリックス結合型生体融和材料の製造方法。

【請求項7】 前記チタンまたはチタン合金を、ガラス、ポリマー、セラミックスのいずれかの表面に設けるようにしたことを特徴とする請求項5または6

記載の細胞外マトリックス結合型生体融和材料の製造方法。

【請求項 8】 前記チタンまたはチタン合金の表面に、予め培養液中で石灰化層を形成するようにしたことを特徴とする請求項 5～7 のいずれかに記載の細胞外マトリックス結合型生体融和材料の製造方法。

【請求項 9】 培養液中のチタンまたはチタン合金上に、使用される生体部位の細胞を培養し、この細胞と前記チタンまたはチタン合金上に形成される石灰化層との間に細胞外マトリックスを形成させたのち、前記生体部位の細胞を除去し、脱灰処理を行って細胞外マトリックスの懸濁液を得、これを濃縮して新たな生体部位用のチタンまたはチタン合金に細胞外マトリックスを結合させるようにしたことを特徴とする細胞外マトリックス結合型生体融和材料の製造方法。

【請求項 10】 使用される生体部位の細胞による細胞外マトリックスを濃縮調製してなる注射薬であることを特徴とする細胞外マトリックス製剤。

【請求項 11】 使用される生体部位の細胞による細胞外マトリックスを濃縮した濃縮液と軟膏基材とを調製してなる軟膏製剤であることを特徴とする細胞外マトリックス製剤。

【請求項 12】 培養液中のチタンまたはチタン合金上に、使用される生体部位の細胞を培養し、この細胞と前記チタンまたはチタン合金上に形成される石灰化層との間に細胞外マトリックスを形成させたのち、前記生体部位の細胞を除去し、脱灰処理を行って細胞外マトリックスの懸濁液を得、これを透析して濃縮後、滅菌して注射薬を調製するようにしたことを特徴とする細胞外マトリックス製剤の製造方法。

【請求項 13】 培養液中のチタンまたはチタン合金上に、使用される生体部位の細胞を培養し、この細胞と前記チタンまたはチタン合金上に形成される石灰化層との間に細胞外マトリックスを形成させたのち、前記生体部位の細胞を除去し、脱灰処理を行って細胞外マトリックスの懸濁液を得、これを濃縮して軟膏基剤を加えて軟膏製剤を調製するようにしたことを特徴とする細胞外マトリックス製剤の製造方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

この発明は、細胞外マトリックス結合型生体融和材料およびその製造方法、細胞外マトリックス製剤およびその製造方法に関し、生体外で予め細胞外マトリックスを設けることで生体親和性、組織誘導性などを向上したものであり、人工歯根、人工骨等広く生体内に埋入される生体機能材料や注射薬あるいは軟膏製剤として必要な組織を速やかに再生する必要がある場合に適用できるものである。

【0002】

【従来の技術】

従来から医療に利用されている生体機能材料としては、金属やセラミックス、ポリマーなどがあり、例えば障害や疾病により皮膚や軟骨、骨などの組織が大きく欠損した場合の整形外科用材料や歯科用補綴材として需要が高まっている。

【0003】

特に、歯科においては、骨や歯根などの生体機能材料として優れた耐蝕性を持っているチタンやチタン合金が用いられるようになってきている。

【0004】

このようなチタンやチタン合金は、そのままでは骨細胞との親和性が悪く、接着しにくいという問題があることから、これらを改善するため種々の表面処理法などが提案されている。

【0005】

例えばチタンやチタン合金の表面に骨の主成分であるハイドロキシアパタイトを溶射法やイオン注入などの工学的手法でコーティングし、こうすることによって骨細胞との親和性を向上することが行われている。

【0006】

また、チタンやチタン合金の表面にコラーゲン、ゼラチン、RGDペプチドなどの有機化合物を固定化することで細胞接着を促進する研究も行われている。

【0007】

【発明が解決しようとする課題】

ところが、このようなチタンやチタン合金の表面にハイドロキシアパタイトをコーティングすることで骨細胞との親和性が改善されるものの、チタンやチタン

合金とハイドロキシアパタイトとの界面の強度が弱く、十分な強度が得られないという問題がある。

【0008】

また、有機化合物を固定化して用いる場合、例えばコラーゲンとして抽出したトロポコラーゲンをを用いる場合には、トロポコラーゲンのネットワークが形成されるものの、線維形成が認められず、生体に適用した場合の細胞分化の十分な促進効果が期待できないという問題がある。

【0009】

さらに、注射薬や軟膏などの製剤として組織を速やかに再生することができるものの開発が望まれている。

【0010】

この発明は、上記従来技術における欠点を解消し、細胞との親和性を向上することができ、細胞分化を促進することができる細胞外マトリックス結合型生体融和材料およびその製造方法を提供しようとするものである。

【0011】

また、この発明は、上記従来技術の要望に鑑みてなされたもので、注射薬や軟膏などの製剤として組織を速やかに再生することができる細胞外マトリックス製剤の製造方法を提供しようとするものである。

【0012】

【課題を解決するための手段】

上記課題を解決するための細胞外マトリックス結合型生体融和材料の開発研究にあたり、まず、生体中で生体材料を適用する組織がどのような反応性を持ち、どのように変化するかを実験により調べることにし、ここでは、歯科領域で最も期待されているチタンについて生体内で起こる現象を調べた。

【0013】

骨組織にインプラントしたチタンでは、その表層に骨芽細胞が接触すると考えられることから、チタン上に骨芽細胞を培養する実験を行った。

【0014】

この実験によれば、チタン表面では、容易にリン酸を吸着することによってハ

イドロキシアパタイト形成による石灰化層が形成され、さらにこのハイドロキシアパタイトと骨芽細胞との間に骨芽細胞が合成する細胞外マトリックスが形成されることが分かった。

【0015】

この細胞外マトリックスは、生体を形成するほとんどの組織では多数の細胞と細胞の空隙に存在する明瞭な構造として知られているものであるが、上記実験のようなチタン上に培養した骨芽細胞との間に細胞外マトリックスが形成されることは全く知られていず、本願発明者らによって培養後に骨芽細胞だけを取り除くことができ始めてその存在が明らかとなったものである。

【0016】

そして、この細胞外マトリックスは、骨芽細胞によって主成分であるトロポコラーゲンや非コラーゲン性蛋白質が細胞外に分泌されることによって形成され、細胞の周辺部からのみならず、細胞からやや離れた部位からでも線維性コラーゲンを主体として形成されることが分かった。

【0017】

この細胞外マトリックスは、その一端が生体材料であるチタン上に結合し、他端はインテグリンレセプター等を介して骨芽細胞等の細胞に結合し、チタン上での石灰化の進行にともなって細胞外マトリックス中の線維性コラーゲンは石灰化領域に埋め込まれてしまい、強固に結合された状態となることが分かった。

【0018】

このような骨芽細胞と細胞外マトリックスと石灰化層との関係は、骨芽細胞という船からコラーゲンというロープが投げ込まれていて、その先端のアンカーが海底という石灰化層に固定されているかのようになり、この構造を以下、アンカー構造と呼ぶことにする。

【0019】

このアンカー構造を介して細胞外マトリックスを結合させた生体材料（チタン）から、その表面の培養に用いた骨芽細胞を除去して細胞外マトリックスだけが結合された生体材料を生体に適用すると、細胞外マトリックスによって必要な細胞を遊走、増殖および分化させ、必要な組織が速やかに再生されることが分かった

【0020】

さらに、細胞を除去して細胞外マトリックスを結合させた生体材料を生体に適用する場合だけでなく、これを脱灰処理することで細胞外マトリックスだけが懸濁液として得られ、この懸濁液を濃縮し、この中に新たなチタンやチタン合金等の生体材料を入れることで、新たな生体材料にアンカー構造を介して細胞外マトリックスを結合させることができ、直接骨芽細胞などの支持組織の細胞を培養することが難しい複雑な形状の生体材料にもアンカー構造を介して細胞外マトリックスを結合させることができることがわかった。

【0021】

また、この懸濁液を透析して濃縮し滅菌することで、必要な組織を速やかに再生することができる注射薬を得ることができ、懸濁液を濃縮して軟膏基剤を加えて得られる軟膏製剤によって必要な組織を速やかに再生することができることがわかった。

【0022】

このような実験結果に基づいて完成したこの発明の具体的な構成は以下の通りであり、この発明の請求項1記載の細胞外マトリックス結合型生体融和材料は、生体用材料上に石灰化層を介し、使用される生体部位の細胞による細胞外マトリックスを形成してなることを特徴とするものである。

【0023】

この細胞外マトリックス結合型生体融和材料によれば、生体用材料の上に石灰化層を介して使用される生体部位の細胞による細胞外マトリックスを形成しており、生体に適用することで、細胞外マトリックスによって必要な組織の細胞を遊走、増殖および分化させることができ、速やかに組織を再生することができるようになる。

【0024】

また、この発明の請求項2記載の細胞外マトリックス結合型生体融和材料は、請求項1記載の構成に加え、前記生体用材料がチタンまたはチタン合金あるいはハイドロキシアパタイトなどのリン酸カルシウム系化合物、あるいはこれらを表

面に有するガラス、ポリマー、セラミックスのいずれかであることを特徴とするものである。

【0025】

この細胞外マトリックス結合型生体融和材料によれば、生体用材料を、チタンまたはチタン合金あるいはハイドロキシアパタイトなどのリン酸カルシウム系化合物、あるいはこれらを表面に有するガラス、ポリマー、セラミックスのいずれかとするようにしており、表面に有するチタンまたはチタン合金あるいはハイドロキシアパタイトなどのリン酸カルシウム系化合物上に石灰化層を介して細胞外マトリックスを結合でき、生体への適用範囲を大巾に広げることができるようになる。

【0026】

さらに、この発明の請求項3記載の細胞外マトリックス結合型生体融和材料は、請求項1または2記載の構成に加え、前記使用される生体部位の前記細胞が、骨芽細胞、軟骨芽細胞、腱細胞、血管内皮細胞、上皮細胞、線維芽細胞、グリア細胞のいずれかであり、このいずれかの細胞による細胞外マトリックスであることを特徴とするものである。

【0027】

この細胞外マトリックス結合型生体融和材料によれば、使用される生体部位の前記細胞を、骨芽細胞、軟骨芽細胞、腱細胞、血管内皮細胞、上皮細胞、線維芽細胞、グリア細胞のいずれかとし、このいずれかの細胞による細胞外マトリックスを結合するようにはしており、骨芽細胞による細胞外マトリックスにより人工の骨や関節、あるいは歯根等として、軟骨芽細胞による細胞外マトリックスにより関節の人工の軟骨等として、腱細胞による細胞外マトリックスにより腱断裂部などの移植用として、血管内皮細胞による細胞外マトリックスにより血管や内臓の上皮細胞による細胞外マトリックスによる臓器等の移植用として、線維芽細胞による細胞外マトリックスにより人工の皮膚等として、神経組織由来のグリア細胞による細胞外マトリックスにより脳等の移植用として用いて速やかに組織を再生することができるようになる。

【0028】

また、この発明の請求項 4 記載の細胞外マトリックス結合型生体融和材料は、請求項 1 ～ 3 のいずれかに記載の構成に加え、前記細胞外マトリックス上に、使用される生体部位の細胞を備えてなることを特徴とするものである。

【 0 0 2 9 】

この細胞外マトリックス結合型生体融和材料によれば、細胞外マトリックス上に、使用される生体部位の細胞を備えており、細胞外マトリックス上に細胞を残したままとすることで簡単に製造でき、一層生体への親和性を向上することができるようになる。

【 0 0 3 0 】

さらに、この発明の請求項 5 記載の細胞外マトリックス結合型生体融和材料の製造方法は、培養液中のチタンまたはチタン合金上に、使用される生体部位の細胞を培養し、この細胞と前記チタンまたはチタン合金上に形成される石灰化層との間に細胞外マトリックスを形成させるようにしたことを特徴とするものである。

【 0 0 3 1 】

この細胞外マトリックス結合型生体融和材料の製造方法によれば、培養液中のチタンまたはチタン合金上に、使用される生体部位の細胞を培養し、この細胞と前記チタンまたはチタン合金上に形成される石灰化層との間に細胞外マトリックスを形成させるようにしており、チタンやチタン合金上に石灰化層を介して細胞外マトリックスを結合するとともに、表面に細胞を備えた細胞外マトリックス結合型生体融和材料を製造することができ、細胞外マトリックス上に細胞を残したままとすることで簡単に製造でき、一層生体への親和性を向上することができるようになる。

【 0 0 3 2 】

また、この発明の請求項 6 記載の細胞外マトリックス結合型生体融和材料の製造方法は、培養液中のチタンまたはチタン合金上に、使用される生体部位の細胞を培養し、この細胞と前記チタンまたはチタン合金上に形成される石灰化層との間に細胞外マトリックスを形成させたのち、前記生体部位の細胞を除去するようにしたことを特徴とするものである。

⑤ 皮膚由来線維芽細胞および歯根膜を培養した細胞外マトリックス結合型生体融和材料

a) ハイドロキシアパタイト等のリン酸カルシウムを含む、もしくはチタンをプラズマ照射などで結合させたポリマーおよびその他の材料

皮膚由来線維芽細胞による細胞外マトリックス結合型生体融和材料としてのポリマーは、火傷などの皮膚障害による皮膚欠損部に貼付することにより人工皮膚や人工真皮として外科的治療に用いる。

【0113】

b) ハイドロキシアパタイト等のリン酸カルシウムを含む、もしくはチタンをプラズマ照射などで結合させたポリマーおよびその他の材料

歯根膜由来線維芽細胞による細胞外マトリックス結合型生体融和材料としてのポリマーは、歯根膜誘導能を持つGTR膜として歯周組織の歯根膜欠損部に貼付するか、あるいは内部に移植することにより歯科治療に用いる。

【0114】

⑥ 内臓由来線維芽細胞を培養した細胞外マトリックス結合型生体融和材料

肝臓由来上皮細胞による細胞外マトリックス結合型生体融和材料としてのポリマーは、脂肪肝や肝癌等による肝臓欠損部に貼付するか、あるいは数枚重ねて内部に移植するか、外部にてチューブで繋ぐかすることにより人工肝臓として外科的治療に用いる。

【0115】

肺由来上皮細胞による細胞外マトリックス結合型生体融和材料としてのポリマーは、肺炎や肺癌等による肺欠損部に貼付するか、あるいは数層を重ねて移植することにより外科的治療に用いる。

【0116】

腸管等の中空性臓器由来の上皮細胞による細胞外マトリックス結合型生体融和材料としてのポリマーは、チューブ状に成形してその臓器の欠損部に移植することにより外科的治療器具として用いる。

【0117】

その他の内臓由来上皮細胞による細胞外マトリックス結合型生体融和材料とし

てのポリマーは、炎症や癌等による内臓の欠損部に貼付するか、あるいは数層を重ねて内部に移植することにより外科的治療に用いる。

【0118】

⑦ グリア細胞を培養した細胞外マトリックス結合型生体融和材料

a) ハイドロキシアパタイト等のリン酸カルシウムを含む、もしくはチタンをプラズマ照射などで結合させたポリマーおよびその他の材料

神経組織由来のグリア細胞による細胞外マトリックス結合型生体融和材料としてのポリマーは、脳梗塞やアルツハイマー病等による欠損部あるいは萎縮した領域に貼付するか、あるいは数枚重ねて内部に移植することにより外科的治療に用いる。

【0119】

⑧ 複合細胞を培養した細胞外マトリックス結合型生体融和材料

アンカー構造を介して複数種の骨芽細胞などの支持組織の細胞の細胞外マトリックス（複合細胞外マトリックス）を生体用材料に結合させることができる。

【0120】

a) チタン

まず、チタンプレートあるいはチタン棒の表層に骨芽細胞による細胞外マトリックスを形成された後、細胞を除去する。

【0121】

次いで、歯根膜により第2層目の細胞外マトリックスを結合させて細胞を除去する。

【0122】

最後に、再び骨芽細胞により細胞外マトリックスを結合させて細胞を除去する。

【0123】

こうして得られた複合細胞外マトリックスを結合させたチタンプレートあるいはチタン棒を用いて、人工関節や人工歯根を作成し、整形外科および歯科の治療器具として用いる。

【0124】

これにより、移植した人工関節や人工歯根の周辺に骨膜や歯根膜等の結合組織をともなった骨再生が行われる。

【0125】

b) ハイドロキシアパタイト等のリン酸カルシウムを含む、もしくはチタンをプラズマ照射などで結合させたポリマーおよびその他の材料

皮膚由来の上皮と真皮由来の線維芽細胞により両面にそれぞれの細胞外マトリックスを結合させた細胞外マトリックス結合型生体融和材料としてのポリマーは、火傷などの皮膚障害による皮膚欠損部に貼付する（複合人工皮膚）ことにより外科的治療に用いる。

【0126】

この複合人工皮膚は皮膚欠損部に真皮と上皮の両方の再生を同時に誘導することができる。

【0127】

（実施例3）

以下、この発明の細胞外マトリックス製剤の実施例について説明するが、これに限定するものでない。

【0128】

① 骨芽細胞を用いた細胞外マトリックス製剤

a) 注射薬

骨芽細胞を用いた細胞外マトリックス製剤としての注射薬は、骨折や骨吸収部位の骨膜下に注射することにより速やかに骨折治療および骨再生が行われる。

【0129】

特に、歯槽膿漏による歯槽骨の吸収部位に適用すれば、歯槽骨の再生を誘導し、咬合力の回復と歯牙の消失を阻止することができる。

【0130】

歯科における消失歯の治療手段として人工歯根を骨内に移植する方法があるが、この人工歯根のインプラントの前処置として、骨質が少ない部位に注射薬を投与し骨造成を図ることができる。

【0131】

b) 軟膏製剤

骨芽細胞を用いた軟膏製剤は、事故や癌等の疾病により大きな骨欠損部が生じた場合、その部位に外科的処置と並行して軟膏製剤を適用することにより、骨再生を促進することができる。

【0132】

歯科においては、歯槽膿漏の治療手段として、不良歯肉を除去し、歯槽膿漏の病巣を取り除くフラップオペレーションを行うが、この外科的処置と平行して軟膏製剤を適用すれば早期に骨再生ができ、歯槽膿漏の根本的治療が可能となる。

人口歯根インプラントの前処置として、抜歯窩に軟膏製剤を投与することで、創傷治療の促進と骨造成を図ることができる。

【0133】

② 軟骨芽細胞を用いた細胞外マトリックス製剤

a) 注射薬

軟骨芽細胞を用いた細胞外マトリックス製剤としての注射薬は、関節リウマチなどの疾患による関節の軟骨欠損部あるいは永久軟骨の軟骨の障害部位に注射することにより、早期に軟骨の再生が行われる。

【0134】

b) 軟骨製剤

軟骨芽細胞を用いた細胞外マトリックス製剤としての軟膏製剤は、重度の関節リウマチなどの疾患による関節軟骨欠損部あるいは永久軟骨の欠損部等外科的治療が必要な際に、外科的治療と並行して軟膏製剤を適用することで、軟骨再生を促進する。

【0135】

③ 腱細胞を用いた細胞外マトリックス製剤

a) 注射薬

腱細胞を用いた細胞外マトリックス製剤の注射薬は、アキレス腱などの腱の障害や断裂の際に直接注射するか、外科的処置と並行して注射を行うことにより腱の再生を促進することができる。

【0136】

b) 軟膏製剤

腱細胞を用いた細胞外マトリックス製剤の軟膏製剤は、アキレス腱などの腱の断裂等、外科的処置を必要とする際に並行して軟膏製剤を適用することにより腱の再生を促進することができる。

【0137】

④ 皮膚由来線維芽細胞および上皮細胞を用いた細胞外マトリックス製剤

a) 軟膏製剤

皮膚由来線維芽細胞および上皮細胞を用いた細胞外マトリックス製剤としての軟膏製剤は、火傷などの皮膚障害による皮膚欠損部に塗布するか、あるいは外科的処置と並行して軟膏製剤を適用する。

【0138】

軽度の火傷、擦り傷や切り傷に際して、軟膏製剤を塗布することにより創傷治癒が促進される。

【0139】

⑤ 歯根膜由来結合組織細胞を用いた細胞外マトリックス製剤

a) 注射薬

歯根膜由来結合組織細胞を用いた細胞外マトリックス製剤としての注射薬は、虫歯や歯槽膿漏により歯根膜消失部位に注射薬を投与すると、歯根膜の再生が促進され、咬合力の回復、歯牙の消失が阻止される。

【0140】

b) 軟膏製剤

歯根膜由来結合組織細胞を用いた細胞外マトリックス製剤としての軟膏製剤は、虫歯や歯槽膿漏により歯根膜消失部位に軟膏製剤を投与すると、歯根膜の再生が促進され、咬合力の回復、歯牙の消失が阻止される。

【0141】

⑥ 内臓由来結合組織細胞を用いた細胞外マトリックス製剤

a) 注射薬

肝臓の結合組織細胞の細胞外マトリックス製剤としての注射薬は、脂肪肝や肝硬変、肝癌等の疾病による欠損部に注射することにより肝臓の再生と機能回復を

促進する。

【0142】

肺の結合組織細胞の細胞外マトリックス製剤としての注射薬は、肺炎や肺癌等の疾病による欠損部に注射することにより肺の再生と機能回復を促進する。

【0143】

その他の内臓の結合組織細胞の細胞外マトリックス製剤としての注射薬は、疾病による内臓の欠損部に注射することにより内臓の再生と機能回復を促進する。

b) 軟膏製剤

肝臓の結合組織細胞の細胞外マトリックス製剤としての軟膏製剤は、脂肪肝や肝硬変、肝癌等の疾病の際の外科的処置と並行して欠損部位に塗布することにより肝臓の再生と機能回復を促進する。

【0144】

肺の結合組織細胞の細胞外マトリックス製剤としての軟膏製剤は、肺炎や肺癌等の疾病の際の外科的処置と並行して欠損部位に塗布することにより肺の再生と機能回復を促進する。

【0145】

その他の内臓の結合組織細胞の細胞外マトリックス製剤としての軟膏製剤は、疾病の際の外科的処置と並行して内臓の欠損部位に塗布することによりその内臓の再生と機能回復を促進する。

【0146】

⑦ グリア細胞を用いた細胞外マトリックス製剤

a) 注射薬

アルツハイマー病や軽度の脳梗塞等のような中枢神経の疾患に、グリア細胞由来の注射薬を脳脊髄液に直接脊椎穿刺により投与することにより、神経細胞の活性化による症状の改善が図られる。

【0147】

b) 軟膏製剤

アルツハイマー病や軽度の脳梗塞等のような中枢神経の疾患に、外科的処置と並行してグリア細胞由来の軟膏製剤を障害部位に塗布することにより、神経細胞

の活性化による症状の改善が図られる。

【0148】

【発明の効果】

以上、実施の形態とともに、具体的に説明したように、この発明の請求項1記載の細胞外マトリックス結合型生体融和材料によれば、生体用材料の上に石灰化層を介して使用される生体部位の細胞による細胞外マトリックスを形成したので、生体に適用することで、細胞外マトリックスによって必要な組織の細胞を遊走、増殖および分化させることができ、速やかに組織を再生することができる。

【0149】

また、この発明の請求項2記載の細胞外マトリックス結合型生体融和材料によれば、生体用材料を、チタンまたはチタン合金あるいはハイドロキシアパタイトなどのリン酸カルシウム系化合物、あるいはこれらを表面に有するガラス、ポリマー、セラミックスのいずれかとするようにしたので、表面に有するチタンまたはチタン合金あるいはハイドロキシアパタイトなどのリン酸カルシウム系化合物上に石灰化層を介して細胞外マトリックスを結合でき、生体への適用範囲を大巾に広げることができる。

【0150】

さらに、この発明の請求項3記載の細胞外マトリックス結合型生体融和材料によれば、使用される生体部位の前記細胞を、骨芽細胞、軟骨芽細胞、腱細胞、血管内皮細胞、上皮細胞、線維芽細胞、グリア細胞のいずれかとし、このいずれかの細胞による細胞外マトリックスを結合するようにしたので、骨芽細胞による細胞外マトリックスにより人工の骨や関節、あるいは歯根等として、軟骨芽細胞による細胞外マトリックスにより関節の人工の軟骨等として、腱細胞による細胞外マトリックスにより腱断裂部などの移植用として、線維芽細胞による細胞外マトリックスにより人工の皮膚等として、血管内皮細胞や臓器由来の上皮細胞による細胞外マトリックスにより血管や臓器等の移植用として、神経組織由来のグリア細胞による細胞外マトリックスにより脳等の移植用として用いて速やかに組織を再生することができる。

【0151】

また、この発明の請求項 4 記載の細胞外マトリックス結合型生体融和材料によれば、細胞外マトリックス上に、使用される生体部位の細胞を備えたので、細胞外マトリックス上に細胞を残したままとすることで簡単に製造でき、一層生体への親和性を向上することができる。

【0152】

さらに、この発明の請求項 5 記載の細胞外マトリックス結合型生体融和材料の製造方法によれば、培養液中のチタンまたはチタン合金上に、使用される生体部位の細胞を培養し、この細胞と前記チタンまたはチタン合金上に形成される石灰化層との間に細胞外マトリックスを形成させるようにしたので、チタンやチタン合金上に石灰化層を介して細胞外マトリックスを結合するとともに、表面に細胞を備えた細胞外マトリックス結合型生体融和材料を製造することができ、細胞外マトリックス上に細胞を残したままとすることで簡単に製造でき、一層生体への親和性を向上することができる。

【0153】

また、この発明の請求項 6 記載の細胞外マトリックス結合型生体融和材料の製造方法によれば、培養液中のチタンまたはチタン合金上に、使用される生体部位の細胞を培養し、この細胞と前記チタンまたはチタン合金上に形成される石灰化層との間に細胞外マトリックスを形成させたのち、前記生体部位の細胞を除去するようにしたので、チタンやチタン合金上に石灰化層を介して細胞外マトリックスを結合した細胞外マトリックス結合型生体融和材料を製造することができ、生体に適用することで、細胞外マトリックスによって必要な組織の細胞を遊走、増殖および分化させることができ、速やかに組織を再生することができる。

【0154】

さらに、この発明の請求項 7 記載の細胞外マトリックス結合型生体融和材料の製造方法によれば、前記チタンまたはチタン合金を、ガラス、ポリマー、セラミックスのいずれかの表面に設けるようにしたので、ガラス、ポリマー、セラミックスのいずれかの表面に設けたチタンまたはチタン合金上に細胞外マトリックスを結合することで、一層広範囲の生体部位に適用することができる。

【0155】

また、この発明の請求項 8 記載の細胞外マトリックス結合型生体融和材料の製造方法によれば、チタンまたはチタン合金の表面に、予め培養液中で石灰化層を形成するようにしたので、石灰化層の形成を待たずに細胞外マトリックスが形成でき、一層短期間に製造できる。

【0156】

さらに、この発明の請求項 9 記載の細胞外マトリックス結合型生体融和材料の製造方法によれば、培養液中のチタンまたはチタン合金上に、使用される生体部位の細胞を培養し、この細胞と前記チタンまたはチタン合金上に形成される石灰化層との間に細胞外マトリックスを形成させたのち、前記生体部位の細胞を除去し、脱灰処理を行って細胞外マトリックスの懸濁液を得、これを濃縮して新たな生体部位用のチタンまたはチタン合金に細胞外マトリックスを結合させるようにしたので、細胞外マトリックスの懸濁液を用いて細胞外マトリックスを結合させることで、複雑な形状のものへの適用も可能となり、一層広範囲の生体部位に適用できる。

【0157】

また、この発明の請求項 10 記載の細胞外マトリックス製剤によれば、使用される生体部位の細胞による細胞外マトリックスを濃縮調製して注射薬としたので、細胞外マトリックス濃縮調製した注射薬により、必要な組織を速やかに再生することができる。

【0158】

さらに、この発明の請求項 11 記載の細胞外マトリックス製剤によれば、細胞外マトリックスを濃縮した濃縮液と軟膏基材とを調製して軟膏製剤としたので、細胞外マトリックスを濃縮した濃縮液と軟膏基材とを調製した軟膏製剤により、必要な組織を速やかに再生することができる。

【0159】

また、この発明の請求項 12 記載の細胞外マトリックス製剤の製造方法によれば、培養液中のチタンまたはチタン合金上に、使用される生体部位の細胞を培養し、この細胞と前記チタンまたはチタン合金上に形成される石灰化層との間に細胞外マトリックスを形成させたのち、前記生体部位の細胞を除去し、脱灰処理を

行って細胞外マトリックスの懸濁液を得、これを透析して濃縮後、滅菌して注射薬を調製するようにしたので、細胞外マトリックスの懸濁液を用いた注射薬を製造することができ、これを注射することにより、必要な組織を速やかに再生することができる。

【0160】

さらに、この発明の請求項13記載の細胞外マトリックス製剤の製造方法によれば、培養液中のチタンまたはチタン合金上に、使用される生体部位の細胞を培養し、この細胞と前記チタンまたはチタン合金上に形成される石灰化層との間に細胞外マトリックスを形成させたのち、前記生体部位の細胞を除去し、脱灰処理を行って細胞外マトリックスの懸濁液を得、これを濃縮して軟膏基剤を加えて軟膏製剤を調製するようにしたので、細胞外マトリックスの懸濁液を用いた軟膏製剤を製造することができ、これを塗布することにより、必要な組織を速やかに再生することができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】

この発明の細胞外マトリックス結合型生体融和材料の一実施の形態にかかる生体用材料としてチタンを用いた場合の模式図である。

【図2】

この発明の細胞外マトリックス結合型生体融和材料の他の一実施の形態にかかる生体用材料としてチタンを用いた場合の模式図である。

【図3】

この発明の細胞外マトリックス結合型生体融和材料の実施例のチタンプレート上の石灰化層の電子顕微鏡写真である。

【図4】

この発明の細胞外マトリックス結合型生体融和材料の実施例の培養5日後のチタンプレート上の細胞外マトリックスの電子顕微鏡写真である。

【図5】

この発明の細胞外マトリックス結合型生体融和材料の実施例の培養7日後のチタンプレート上の細胞外マトリックスの電子顕微鏡写真である。

【符号の説明】

- 1 0 細胞外マトリックス結合型生体融和材料
- 1 1 生体用材料（チタン）
- 1 2 石灰化層
- 1 3 細胞外マトリックス
- 1 4 細胞（骨芽細胞）

4を培養した場合には、(1)の工程と同様に、容易にリン酸を吸着することによりハイドロキシアパタイト形成による石灰化層12が形成された後、この石灰化層12上に、既に石灰化層12を形成したのち細胞14を培養した場合には、この石灰化層12上に、それぞれの細胞14が合成する細胞外マトリックス13が形成される。

【0059】

この石灰化層12上に形成される細胞外マトリックス13は、その一端が生体用材料であるチタン11上に結合し、他端はインテグリンレセプター等を介して骨芽細胞等の細胞14に結合し、チタン11上での石灰化の進行にともなって細胞外マトリックス13中の線維性コラーゲンは石灰化層12領域に埋め込まれてしまい、強固に結合された状態となり、既に説明したアンカー構造となる。

【0060】

(3) このように生体用材料であるチタン11上に細胞14を培養することで、石灰化層12を介してアンカー構造で細胞外マトリックス13が成形された後、細胞14を除去する。

【0061】

この細胞14だけを除去する方法としては、例えば乾燥と力学的剥離操作とを組み合わせることで行うことができ、脱水後、臨界点乾燥を行った後、粘着テープにより物理的に剥離することで細胞外マトリックス13の表面の細胞14のみを除去することができる。

【0062】

こうして細胞14のみを除去することで、生体用材料であるチタン11上に石灰化層12を介してアンカー構造で細胞外マトリックス13が形成された細胞外マトリックス結合型生体融和材料10を得ることができる。

【0063】

このような細胞外マトリックス13が結合された細胞外マトリックス結合型生体融和材料10の製造方法によれば、簡単に製造することができ、生体に適用することで、必要な細胞を遊走、増殖および分化させ、必要な組織を速やかに再生することができる。

【0064】

また、こうして製造される細胞外マトリックス結合型生体融和材料によれば、細胞14自体を除去してあるので、生体親和性に優れ、免疫性の問題も少なく、広範囲に適用することができる。

【0065】

なお、生体部位の細胞が骨芽細胞でなく、別の生体部位の細胞を用いて培養する場合には、それぞれの細胞に応じた培養液が必要である。骨芽細胞では α -MEMと10%牛胎仔血清、軟骨芽細胞では α -MEMと0.5%牛胎仔血清、腱細胞ではDMEMと10%牛胎仔血清、線維芽細胞ではDMEMと10%牛胎仔血清、血管内皮細胞ではDMEMと20%牛胎仔血清、上皮細胞ではMEMと20%牛胎仔血清、グリア細胞ではHAMF12とグリアルグロースファクター、インスリン、トリヨードサイロニン等の条件で培養する。

【0066】

また、生体用材料は、チタンやチタン合金に限らず、ハイドロキシアパタイトなどのリン酸カルシウム系化合物、例えばハイドロキシアパタイトやその他のカルシウム、リン酸、あるいはカルシウムとリン酸の両方、もしくはチタンをプラズマ照射したガラス、ポリマー、セラミックス等であっても良く、生体への適用性があるとともに、石灰化層が形成されるものであれば、下地材部分はガラス、ポリマー、セラミックス等を適宜選択すれば良い。

【0067】

次に、この発明の他の実施の形態にかかる細胞外マトリックス結合型生体融和材料およびその製造方法について説明するが、既に説明した細胞外マトリックス結合型生体融和材料10とその製造方法と同一部分については説明は省略する。

この細胞外マトリックス結合型生体融和材料20は、細胞外マトリックス13を形成するために生体用材料11上に培養した生体部位の細胞14、例えば骨芽細胞などの支持組織の細胞14を除去することなくそのまま残したものである。

このように細胞14を残したままの細胞外マトリックス結合型生体融和材料20であっても生体に適用することで、必要な細胞を遊走、増殖および分化させ、必要な組織を速やかに再生することができる。

【0068】

また、細胞14の除去工程が不要となり、一層製造が容易となるとともに、用いた細胞と同一患者に適用する場合には、生体親和性が非常に優れ、免疫性の問題を全くなすことができる。

【0069】

次に、この発明の細胞外マトリックス結合型生体融和材料の製造方法のさらに他の一実施の形態について説明するが、既に説明した製造方法と同一部分については、その説明を省略する。

【0070】

この細胞外マトリックス結合型生体融和材料の製造方法では、細胞外マトリックスの濃縮した懸濁液を用い、チタンなどの生体用材料に細胞外マトリックスをアンカー構造を介して形成するもので、特に生体用材料の形状が複雑で、直接表面に生体部位の細胞14を培養することが難しい場合に好適なものである。

【0071】

この細胞外マトリックス結合型生体融和材料の製造方法では、既に説明した(1)～(3)の工程の細胞外マトリックス結合型生体融和材料10の製造方法にしたがって、細胞14を培養しやすい平板状などの生体用材料11を用いて細胞14の培養を行い、細胞外マトリックス13が形成されたのち、細胞14の除去までの工程を同様に行う。

【0072】

(4) 次に、細胞14のみを除去することで、生体用材料であるチタン11上に石灰化層12を介してアンカー構造で細胞外マトリックス13が形成された後、細胞外マトリックス13だけの懸濁液を得るため、脱灰処理を行いチタン11を脱灰して細胞外マトリックス13だけの懸濁液を得る。

そして、この細胞外マトリックス13だけの懸濁液を濃縮する。

【0073】

(5) この細胞外マトリックス13の濃縮した懸濁液に、生体に適用する複雑形状などの新たな生体用材料であるチタンなどを浸漬する。

【0074】

すると、この懸濁液によってチタン表面に石灰化層12を介して細胞外マトリックス13がアンカー構造を介して結合され、細胞外マトリックス結合型生体融和材料10を得ることができる。

【0075】

この細胞外マトリックス結合型生体融和材料の製造方法によれば、直接生体用材料上に細胞14を培養する必要がなく、複雑な形状の細胞外マトリックス結合型生体融和材料を製造することができ、生体への適用範囲を大巾に拡大することができる。

【0076】

次に、この発明の細胞外マトリックス製剤およびその製造方法の一実施の形態について説明するが、既に説明した細胞外マトリックス結合型生体融和材料の製造方法と同一部分については、その説明を省略する。

【0077】

この細胞外マトリックス製剤およびその製造方法では、注射薬を製造するものであり、細胞外マトリックスを濃縮した懸濁液を用いて注射薬を製造するもので、特に直接生体部位に注射して組織を再生させる場合に好適なものである。

【0078】

この細胞外マトリックス製剤の製造方法では、既に説明した(1)～(3)の工程の細胞外マトリックス結合型生体融和材料10の製造方法にしたがって、細胞14を培養しやすい平板状などの生体用材料11を用いて細胞14の培養を行い、細胞外マトリックス13が形成されたのち、細胞14の除去までの工程を同様に行う。

【0079】

(4) 次に、細胞14のみを除去することで、生体用材料であるチタン11上に石灰化層12を介してアンカー構造で細胞外マトリックス13が形成された後、細胞外マトリックス13だけの懸濁液を得るため、脱灰処理を行いチタン11を脱灰して細胞外マトリックス13だけの懸濁液を得る。

そして、この細胞外マトリックス13だけの懸濁液を透析して濃縮する。

【0080】

(5) この細胞外マトリックス13の濃縮した懸濁液を滅菌して注射薬を調製する。

【0081】

この注射薬を生体に適用すると、この各々の細胞が形成した細胞外マトリックスはそこに必要な細胞を遊走、増殖および分化させ、その部位に必要な組織の細胞外マトリックスを添加性に形成させることができる。

【0082】

これにより、注射薬を適用した部位に必要な組織を速やかに再生させることができる。

【0083】

この細胞外マトリックス製剤およびその製造方法によれば、必要な組織を速やかに再生させることができる細胞外マトリックス製剤としての注射薬を製造することができ、生体への適用範囲を大巾に拡大することができる。

【0084】

次に、この発明の細胞外マトリックス製剤およびその製造方法の他の一実施の形態について説明するが、既に説明した細胞外マトリックス製剤およびその製造方法と同一部分については、その説明を省略する。

【0085】

この細胞外マトリックス製剤およびその製造方法では、軟膏製剤を製造するものであり、細胞外マトリックスを濃縮した懸濁液を用いて軟膏製剤を製造するもので、特に直接生体部位に塗布して組織を再生させる場合に好適なものである。

【0086】

この細胞外マトリックス製剤およびその製造方法では、既に説明した(1)～(3)の工程の細胞外マトリックス結合型生体融和材料10の製造方法にしたがって、細胞14を培養しやすい平板状などの生体用材料11を用いて細胞14の培養を行い、細胞外マトリックス13が形成されたのち、細胞14の除去までの工程を同様に行う。

【0087】

(4) 次に、細胞14のみを除去することで、生体用材料であるチタン11

上に石灰化層 12 を介してアンカー構造で細胞外マトリックス 13 が形成された後、細胞外マトリックス 13 だけの懸濁液を得るため、脱灰処理を行いチタン 1 を脱灰して細胞外マトリックス 13 だけの懸濁液を得る。

そして、この細胞外マトリックス 13 だけの懸濁液を濃縮する。

【0088】

(5) この細胞外マトリックス 13 の濃縮した懸濁液に軟膏基剤を加えて軟膏製剤を調製する。

この軟膏製剤を生体に適用すると、この各々の細胞が形成した細胞外マトリックスはそこに必要な細胞を遊走、増殖および分化させ、その部位に必要な組織の細胞外マトリックスを添加性に形成させることができる。

【0089】

これにより、軟膏製剤を塗布した部位に必要な組織を速やかに再生させることができる。

【0090】

この細胞外マトリックス製剤およびその製造方法によれば、必要な組織を速やかに再生させることができる細胞外マトリックス製剤としての軟膏製剤を製造することができ、生体への適用範囲を大巾に拡大することができる。

【0091】

【実施例】

(実施例 1)

以下、この発明の細胞外マトリックス結合型生体融和材料の製造方法の一実施例について説明するが、これに限定するものでない。

【0092】

① 生体用材料としてチタン製のプレートを用意し、表面を P180、P600、P1500、P2000、P3000 の耐水ペーパーおよび P4000 のファインダイヤフィルム（研磨紙）で研磨した。

【0093】

② 研磨したチタンプレートを 10% 牛胎仔血清、抗生物質を含む α -MEM (GibcoBRL) 培養液中で、37℃、5% CO₂ in Air で 1～3 週間培養して予

備石灰化を行った。

その結果、図3(a)(b)に示すように、チタンプレート上に、培養3週間後には、石灰化沈着物が形成される。

【0094】

③ 予備石灰化したチタンプレート上に人由来の骨芽細胞を50000個/倍溶液1mlになるように懸濁、播種し、上記②の工程と同様の条件で培養した。

【0095】

④ 培養後5日と7日後、チタンプレートを取り出し、50%、70%、80%、90%、95%、100%のエタノール溶液でそれぞれ7分間、2回ずつ脱水した。

【0096】

⑤ 脱水後、臨界点乾燥装置(Hitachi, HCP=2)を用いて乾燥した。

【0097】

⑥ 乾燥後、表面の細胞層を両面粘着テープで剥離した。

【0098】

このような①～⑥の工程を経てアンカー構造を介して細胞外マトリックスを結合させたチタンプレートが製造できた。

【0099】

こうして製造された細胞外マトリックス結合型生体融和材料は、図4(a)(b)に示すように、培養5日後ではチタンプレート上の石灰化沈着物上に初期の細胞外マトリックスの線維が形成されていることが分かる。

【0100】

さらに、図5(a)(b)に示すように、培養7日後では細胞外マトリックスのネットワークが形成されていることが分かる。

【0101】

このチタンプレートを動物の骨欠損部に移植すると、速やかに骨組織が形成されることを確認した。

【0102】

(実施例2)

以下、この発明の細胞外マトリックス結合型生体融和材料の実施例について説明するが、これに限定するものでない。

【0103】

① 骨芽細胞を培養した細胞外マトリックス結合型生体融和材料

a) チタン

骨芽細胞による細胞外マトリックス結合型生体融和材料としてのチタンプレートは、骨折および骨欠損部位に外表面からチタンの釘により固定して、あるいは数枚の細胞外マトリックス結合型生体融和材料としてのチタンプレートを重ねて骨欠損部位に埋め込んで整形外科および歯科的治療器具として用いる。

【0104】

骨芽細胞による細胞外マトリックス結合型生体融和材料としてのチタン薄膜は、骨折および骨欠損部位の周囲に巻くことにより整形外科および歯科的治療器具として用いる。

【0105】

骨芽細胞による細胞外マトリックス結合型生体融和材料としてのチタンプレートや棒を用いて人工関節や人工歯根を作成し、整形外科および歯科的治療器具として用いる。

【0106】

b) ハイドロキシアパタイト等のリン酸カルシウム材

骨芽細胞による細胞外マトリックス結合型生体融和材料としてのハイドロキシアパタイト等のリン酸カルシウム材は、骨欠損部の充填材料として整形外科および歯科的治療器具として用いる。

【0107】

c) ハイドロキシアパタイト等のリン酸カルシウムを含む、もしくはチタンをプラズマ照射などで結合させたポリマーおよびその他の材料

骨芽細胞による細胞外マトリックス結合型生体融和材料としてのポリマーは、骨折および骨欠損部位の周囲に巻くか、あるいは数枚重ねて内部に移植することにより整形外科および歯科的治療器具として用いる。また、GTR膜やGBR膜として骨欠損部に貼付することにより歯科的治療器具として用いる。

【 0 1 0 8 】

② 軟骨芽細胞を培養した細胞外マトリックス結合型生体融和材料

a) ハイドロキシアパタイト等のリン酸カルシウム材

軟骨芽細胞による細胞外マトリックス結合型生体融和材料としてのハイドロキシアパタイト等のリン酸カルシウム材は、関節リウマチなどの疾患による関節の軟骨欠損部あるいは他の永久軟骨の軟骨欠損部の充填材料として整形外科的治療器具として用いる。

【 0 1 0 9 】

b) ハイドロキシアパタイト等のリン酸カルシウムを含む、もしくはチタンをプラズマ照射などで結合させたポリマーおよびその他の材料

軟骨芽細胞による細胞外マトリックス結合型生体融和材料としてのポリマーは、関節リウマチなどの疾患による関節の軟骨欠損部や顎関節等の関節円盤の欠損部、あるいは他の永久軟骨の軟骨欠損部に貼付するか、あるいは数枚重ねて内部に移植することにより整形外科的治療器具として用いる。

【 0 1 1 0 】

③ 腱細胞を培養した細胞外マトリックス結合型生体融和材料

a) ハイドロキシアパタイト等のリン酸カルシウムを含む、もしくはチタンをプラズマ照射などで結合させたポリマーおよびその他の材料

腱細胞による細胞外マトリックス結合型生体融和材料としてのポリマーは、腱断裂部位の周囲に巻き固定するか、あるいは内部に移植することにより整形外科的治療器具として用いる。

【 0 1 1 1 】

④ 血管内皮細胞を培養した細胞外マトリックス結合型生体融和材料

a) ハイドロキシアパタイト等のリン酸カルシウムを含む、もしくはチタンをプラズマ照射などで結合させたポリマーおよびその他の材料

血管由来の内皮細胞による細胞外マトリックス結合型生体融和材料としてのポリマーは、チューブ状に成形して血管の欠損部に移植することにより人工血管として外科的治療に用いる。

【 0 1 1 2 】

【 0 0 3 3 】

この細胞外マトリックス結合型生体融和材料の製造方法によれば、培養液中のチタンまたはチタン合金上に、使用される生体部位の細胞を培養し、この細胞と前記チタンまたはチタン合金上に形成される石灰化層との間に細胞外マトリックスを形成させたのち、前記生体部位の細胞を除去するようにしており、チタンやチタン合金上に石灰化層を介して細胞外マトリックスを結合した細胞外マトリックス結合型生体融和材料を製造することができ、生体に適用することで、細胞外マトリックスによって必要な組織の細胞を遊走、増殖および分化させることができ、速やかに組織を再生することができるようになる。

【 0 0 3 4 】

さらに、この発明の請求項 7 記載の細胞外マトリックス結合型生体融和材料の製造方法は、請求項 5 または 6 記載の構成に加え、前記チタンまたはチタン合金を、ガラス、ポリマー、セラミックスのいずれかの表面に設けるようにしたことを特徴とするものである。

【 0 0 3 5 】

この細胞外マトリックス結合型生体融和材料の製造方法によれば、前記チタンまたはチタン合金を、ガラス、ポリマー、セラミックスのいずれかの表面に設けるようにしており、ガラス、ポリマー、セラミックスのいずれかの表面に設けたチタンまたはチタン合金上に細胞外マトリックスを結合することで、一層広範囲の生体部位に適用することができるようになる。

【 0 0 3 6 】

また、この発明の請求項 8 記載の細胞外マトリックス結合型生体融和材料の製造方法は、請求項 5 ～ 7 のいずれかに記載の構成に加え、前記チタンまたはチタン合金の表面に、予め培養液中で石灰化層を形成するようにしたことを特徴とするものである。

【 0 0 3 7 】

この細胞外マトリックス結合型生体融和材料の製造方法によれば、チタンまたはチタン合金の表面に、予め培養液中で石灰化層を形成するようにしており、石灰化層の形成を待たずに細胞外マトリックスが形成でき、一層短期間に製造でき

るようになる。

【0038】

さらに、この発明の請求項9記載の細胞外マトリックス結合型生体融和材料の製造方法は、培養液中のチタンまたはチタン合金上に、使用される生体部位の細胞を培養し、この細胞と前記チタンまたはチタン合金上に形成される石灰化層との間に細胞外マトリックスを形成させたのち、前記生体部位の細胞を除去し、脱灰処理を行って細胞外マトリックスの懸濁液を得、これを濃縮して新たな生体部位用のチタンまたはチタン合金に細胞外マトリックスを結合させるようにしたことを特徴とするものである。

【0039】

この細胞外マトリックス結合型生体融和材料の製造方法によれば、培養液中のチタンまたはチタン合金上に、使用される生体部位の細胞を培養し、この細胞と前記チタンまたはチタン合金上に形成される石灰化層との間に細胞外マトリックスを形成させたのち、前記生体部位の細胞を除去し、脱灰処理を行って細胞外マトリックスの懸濁液を得、これを濃縮して新たな生体部位用のチタンまたはチタン合金に細胞外マトリックスを結合させるようにしており、細胞外マトリックスの懸濁液を用いて細胞外マトリックスを結合させることで、複雑な形状のものへの適用も可能となり、一層広範囲の生体部位に適用できるようになる。

【0040】

また、この発明の請求項10記載の細胞外マトリックス製剤は、使用される生体部位の細胞による細胞外マトリックスを濃縮調製してなる注射薬であることを特徴とするものである。

【0041】

この細胞外マトリックス製剤によれば、使用される生体部位の細胞による細胞外マトリックスを濃縮調製して注射薬としており、細胞外マトリックス濃縮調製した注射薬により、必要な組織を速やかに再生することができるようになる。

【0042】

さらに、この発明の請求項11記載の細胞外マトリックス製剤は、使用される生体部位の細胞による細胞外マトリックスを濃縮した濃縮液と軟膏基材とを調製

してなる軟膏製剤であることを特徴とするものである。

【0043】

この細胞外マトリックス製剤によれば、細胞外マトリックスを濃縮した濃縮液と軟膏基材とを調製して軟膏製剤としており、細胞外マトリックスを濃縮した濃縮液と軟膏基材とを調製した軟膏製剤により、必要な組織を速やかに再生することができるようになる。

【0044】

また、この発明の請求項12記載の細胞外マトリックス製剤の製造方法は、培養液中のチタンまたはチタン合金上に、使用される生体部位の細胞を培養し、この細胞と前記チタンまたはチタン合金上に形成される石灰化層との間に細胞外マトリックスを形成させたのち、前記生体部位の細胞を除去し、脱灰処理を行って細胞外マトリックスの懸濁液を得、これを透析して濃縮後、滅菌して注射薬を調製するようにしたことを特徴とするものである。

【0045】

この細胞外マトリックス製剤の製造方法によれば、培養液中のチタンまたはチタン合金上に、使用される生体部位の細胞を培養し、この細胞と前記チタンまたはチタン合金上に形成される石灰化層との間に細胞外マトリックスを形成させたのち、前記生体部位の細胞を除去し、脱灰処理を行って細胞外マトリックスの懸濁液を得、これを透析して濃縮後、滅菌して注射薬を調製するようにしており、細胞外マトリックスの懸濁液を用いた注射薬を製造することができ、これにより、必要な組織を速やかに再生することができる注射薬になる。

【0046】

さらに、この発明の請求項13記載の細胞外マトリックス製剤の製造方法は、培養液中のチタンまたはチタン合金上に、使用される生体部位の細胞を培養し、この細胞と前記チタンまたはチタン合金上に形成される石灰化層との間に細胞外マトリックスを形成させたのち、前記生体部位の細胞を除去し、脱灰処理を行って細胞外マトリックスの懸濁液を得、これを濃縮して軟膏基剤を加えて軟膏製剤を調製するようにしたことを特徴とするものである。

【0047】

この細胞外マトリックス製剤の製造方法によれば、培養液中のチタンまたはチタン合金上に、使用される生体部位の細胞を培養し、この細胞と前記チタンまたはチタン合金上に形成される石灰化層との間に細胞外マトリックスを形成させたのち、前記生体部位の細胞を除去し、脱灰処理を行って細胞外マトリックスの懸濁液を得、これを濃縮して軟膏基剤を加えて軟膏製剤を調製するようにしており、細胞外マトリックスの懸濁液を用いた軟膏製剤を製造することができ、これにより、必要な組織を速やかに再生することができる軟膏製剤となる。

【 0 0 4 8 】

【発明の実施の形態】

以下、この発明の細胞外マトリックス結合型生体融和材料およびその製造方法の実施の形態について図面を参照しながら詳細に説明する。

【 0 0 4 9 】

図 1 はこの発明の細胞外マトリックス結合型生体融和材料を生体用材料としてチタンを用いた場合の模式図である。

【 0 0 5 0 】

この発明の細胞外マトリックス結合型生体融和材料 1 0 は、図 1 に示すように、生体用材料としてのチタン 1 1 上に石灰化層 1 2 が形成され、この石灰化層 1 2 に一端が埋設結合された状態（アンカー構造）で細胞外マトリックス 1 3 が形成されたものである。

【 0 0 5 1 】

この細胞外マトリックス結合型生体融和材料 1 0 の細胞外マトリックス 1 3 は、適用される生体部位、例えば骨、歯根膜、関節、腱、皮膚、血管、臓器、脳などの支持組織あるいは上皮組織の細胞によるものである。

【 0 0 5 2 】

すなわち、生体部位が骨や歯槽部の場合には、骨芽細胞や歯根膜細胞による細胞外マトリックスが形成される。

【 0 0 5 3 】

同様に、関節の軟骨等の場合には、軟骨芽細胞による細胞外マトリックスが、腱断裂部などの場合には、腱細胞による細胞外マトリックスが、皮膚等の場合に

は、線維芽細胞による細胞外マトリックスが、血管などの場合は血管内皮細胞による細胞外マトリックスが、臓器などの場合は上皮細胞による細胞外マトリックスなどが、脳等の場合には、神経組織由来のグリア細胞による細胞外マトリックスがそれぞれ形成される。

【0054】

この細胞外マトリックス13は線維性コラーゲンや非コラーゲン性蛋白質を主成分とするもので、例えば骨芽細胞等の支持組織の細胞外マトリックスを形成する細胞から細胞外に分泌され、細胞の周辺部からのみならず、細胞からやや離れた部位からでも線維性コラーゲンを主体とした細胞外マトリックスが形成される。

【0055】

そして、この細胞外マトリックスによって、細胞外マトリックス結合型生体融和材料10を生体に適用した場合に、それぞれの細胞が形成した細胞外マトリックス13はそこに必要な細胞を遊走、増殖および分化させ、必要な組織を速やかに再生することができる。

【0056】

次に、このように構成された細胞外マトリックス結合型生体融和材料10の製造方法についてその工程にしたがって説明する。

【0057】

(1) この細胞外マトリックス結合型生体融和材料10の製造方法は、まず、生体部位の細胞14の培養液、例えば骨芽細胞14の培養液にチタンなどの生体用材料11を入れる。

すると、チタン等の生体用材料11の表面に容易にリン酸を吸着することによりハイドロキシアパタイト形成による石灰化層12が形成される。

【0058】

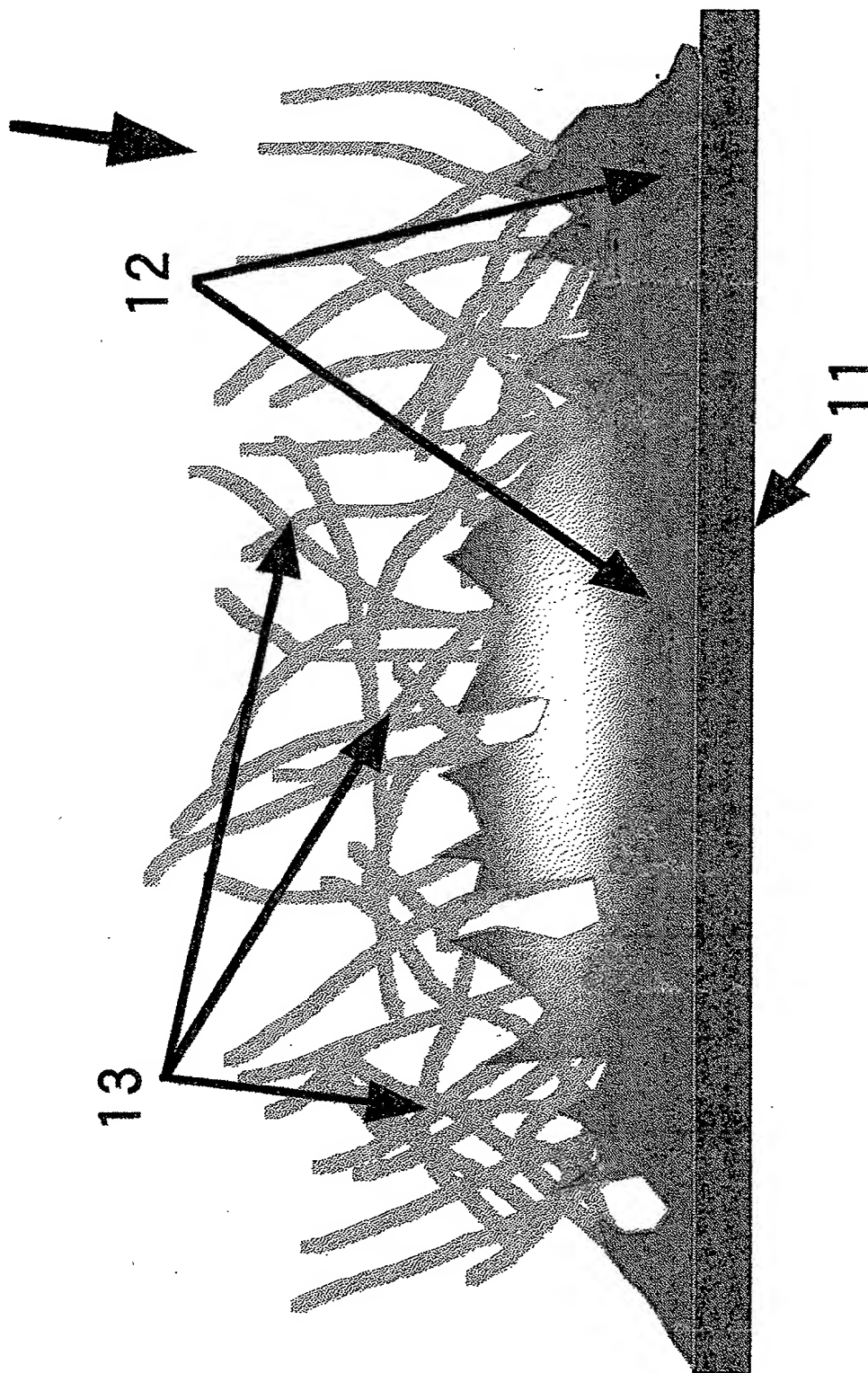
(2) この石灰化層12が形成されたチタン等の生体用材料11上、すなわち石灰化層12の上、あるいはチタン等の生体用材料11の上で生体部位の細胞14、例えば骨芽細胞14等の支持組織の細胞14を培養する。

すると、図2に模式図を示すように、チタン等の生体用材料11の上に細胞1

【書類名】 図面

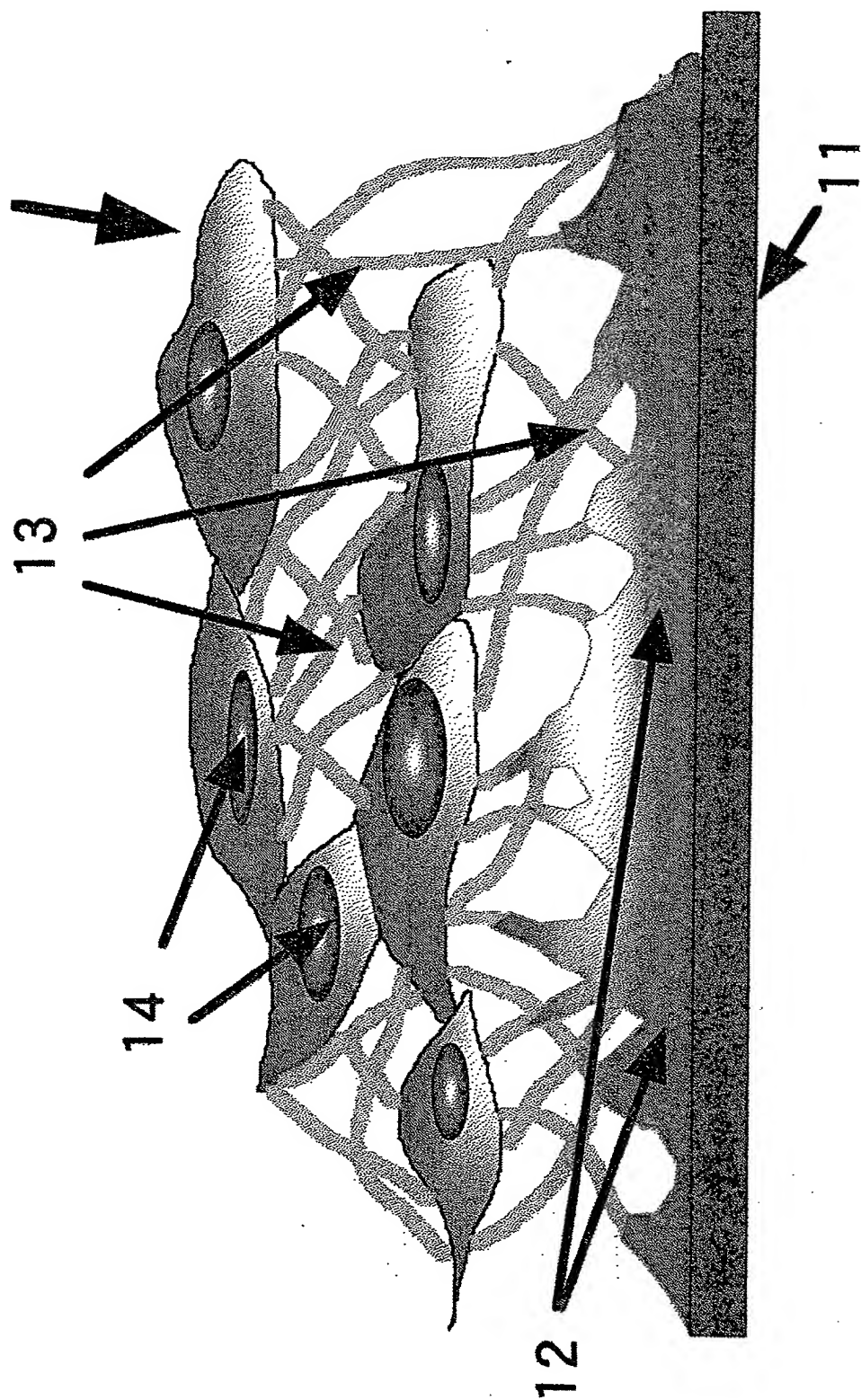
【図1】

10



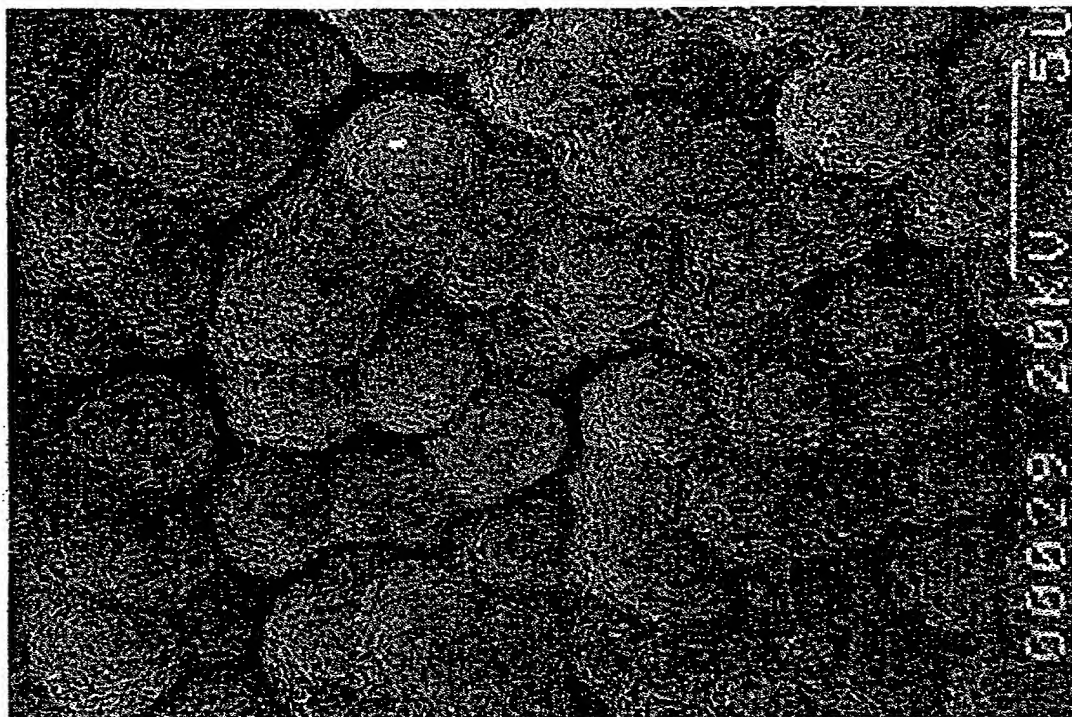
【図2】

20

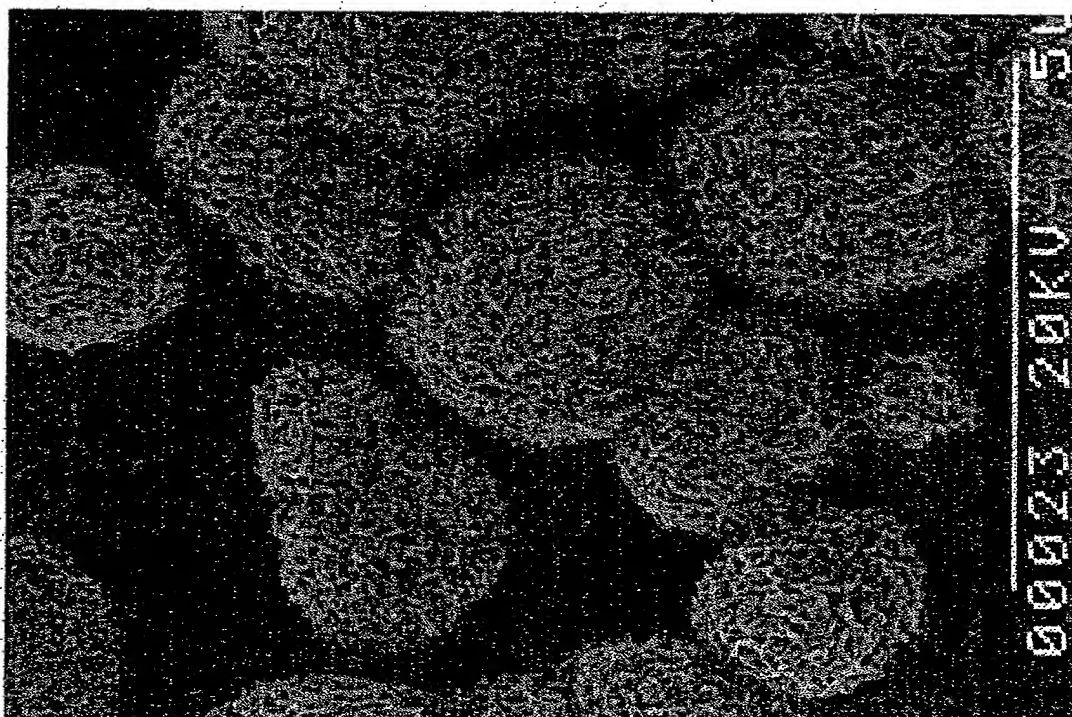


【図3】

(a)

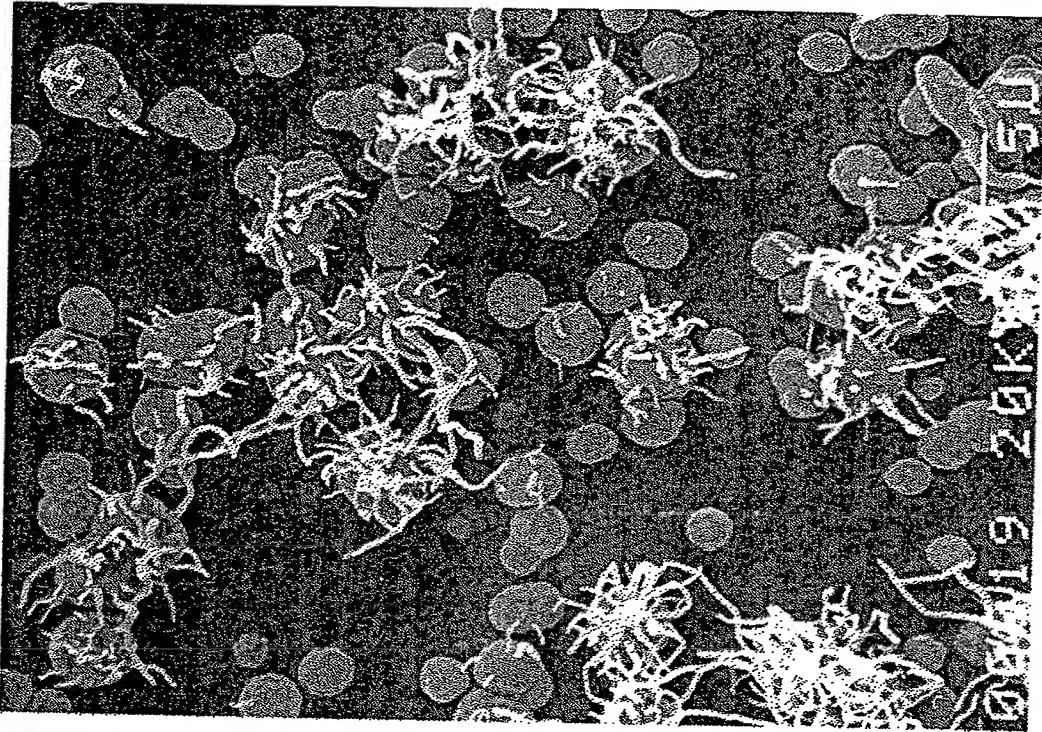


(b)

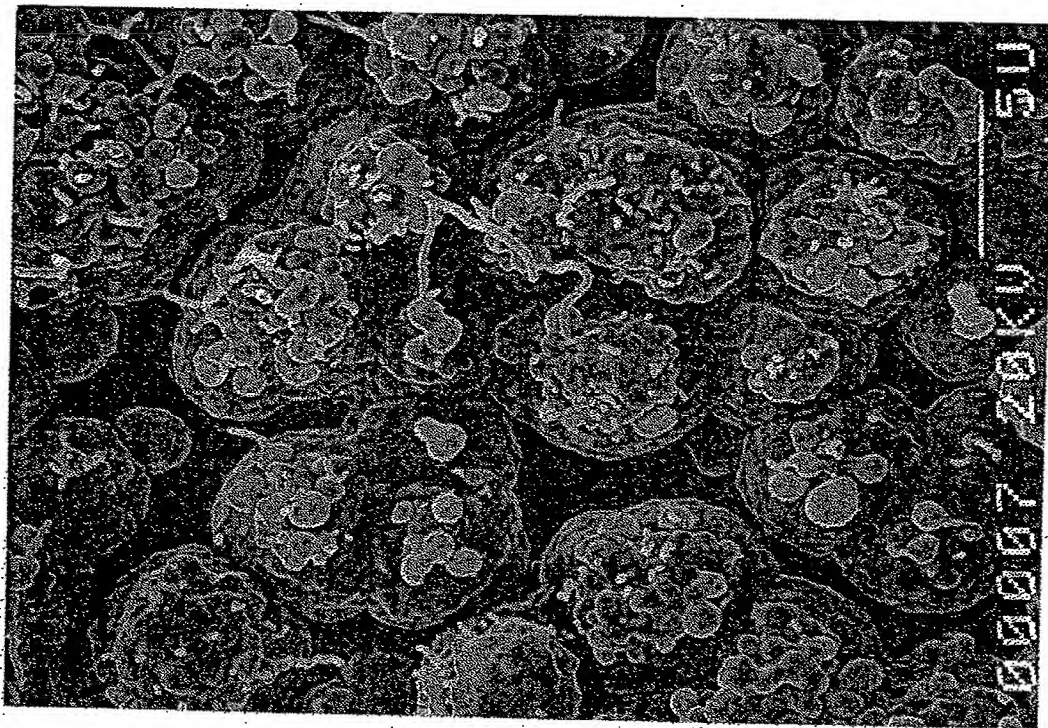


【図4】

(a)

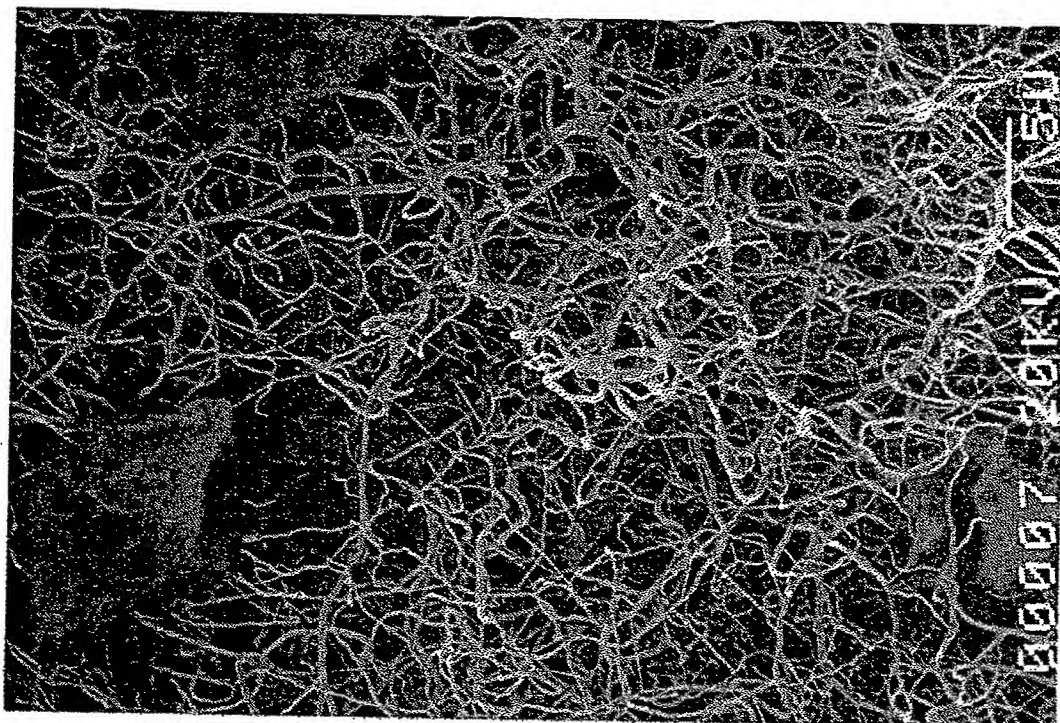


(b)

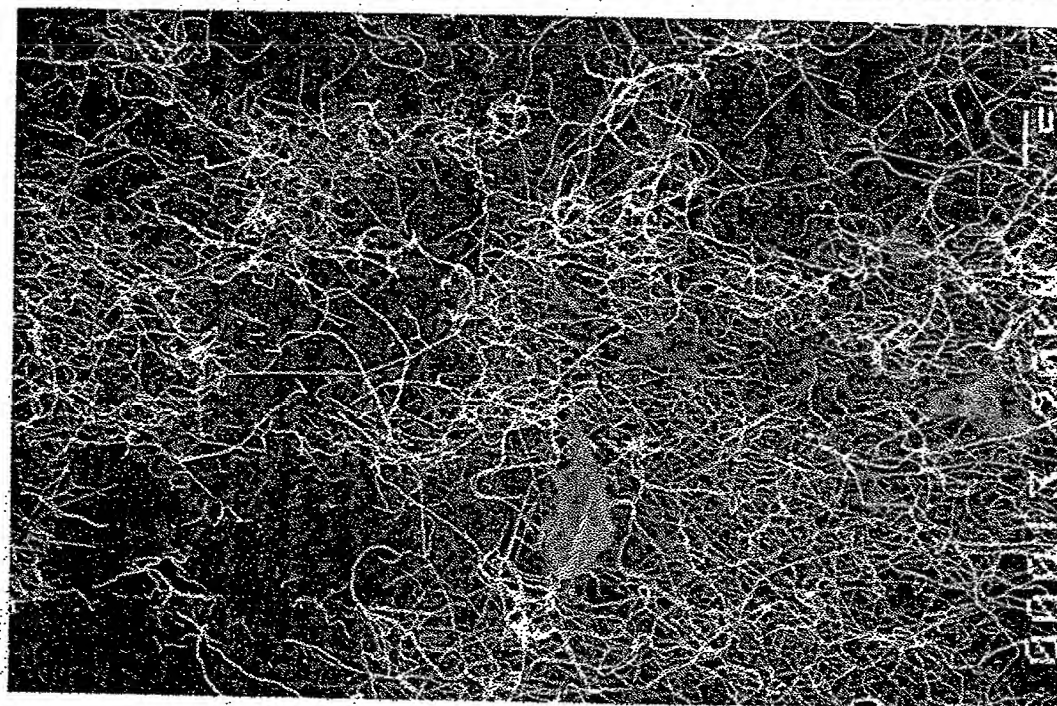


【図5】

(a)



(b)



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 細胞との親和性を向上することができ、細胞分化を促進することができる細胞外マトリックス結合型生体融和材料およびその製造方法を提供すること

。 【解決手段】 生体用材料11の上に石灰化層12を介して使用される生体部位の細胞による細胞外マトリックス13を形成する。

これにより、生体に適用することで、細胞外マトリックス13によって必要な組織の細胞を遊走、増殖および分化させることができ、速やかに組織を再生することができるようになる。

【選択図】 図1

認定・付加情報

特許出願の番号	特願2000-200610	
受付番号	50000831014	
書類名	特許願	
担当官	第四担当上席	0093
作成日	平成12年 7月 7日	

<認定情報・付加情報>

【提出日】	平成12年 7月 3日
-------	-------------

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [000000099]

1. 変更年月日 1990年 8月 7日

[変更理由] 新規登録

住 所 東京都千代田区大手町2丁目2番1号
氏 名 石川島播磨重工業株式会社

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [500315688]

1. 変更年月日 2000年 7月 3日

[変更理由] 新規登録

住 所 徳島県名西郡石井町藍畑字竜王51-69

氏 名 山下 菊治